

論文内容の要旨

論文提出者氏名 椿本 裕子

論文題目

Serglycin is a novel adipocytokine highly expressed in epicardial adipose tissue

論文内容の要旨

肥満は罹患率、死亡率のリスクの増大と関連し、また心血管疾患の独立因子でもある。脂肪組織は単にエネルギー貯蔵器官としてだけでなく内分泌器官として広くみなされており、内臓脂肪の脂肪細胞は、皮下脂肪の脂肪細胞よりも内分泌活性が高いことが示されている。心外膜脂肪(EAT)もケモカインと炎症性サイトカインを分泌していることが報告されており、EATは心血管病の発展に重要な役割を果たしていることが示唆されている。しかしながら、EATから分泌されるアディポサイトカインと、EAT、腹腔内脂肪(OAT)、皮下脂肪(SCAT)の様な脂肪組織間のアディポサイトカインの発現の差異はほとんど研究されていない。本研究において我々は、EAT、OAT、SCATの遺伝子発現のプロファイルを比較検討し、EATに高発現する新規分子として serglycin を同定した。

1. EATの遺伝子プロファイリング

EAT、OAT、SCATの遺伝子発現を比較するために待機的心動脈バイパス術を受ける患者より得たサンプルを用いてDNAマイクロアレイ解析を行った。全ての患者において、EAT、OAT、SCATで発現しているプローベ数は各々15449、15359、15427であった。そのうち15304プローベが脂肪組織の3部位に共通発現しており、その他231プローベは異なる発現パターンであった。EAT対SCAT(EAT/SCAT)の遺伝子発現の比が2.0を超えるものは360プローベ、OAT対SCAT(OAT/SCAT)の遺伝子発現の比が2.0を超えるものは77プローベであった。39プローベはEATとOATの両方で発現が上昇しており、EATのみで上昇したものは321プローベ、OATのみで上昇したものは38プローベであった。一方で、EAT/SCATの遺伝子発現の比が0.5未満のものは158プローベ、OAT/SCATの遺伝子発現の比が0.5未満のものは56プローベ、EATとOATの両方でSCATよりも発現が低下したものは35プローベであった。

2. ヒト心外膜脂肪細胞における serglycin の同定

EATにおいて選択的に上昇していた321プローベのうち55遺伝子が炎症と免疫応答に関連する遺伝子であった。そして、これらの55遺伝子において、IL1 β 、IL6、IL8、ケモカインレセプター2を含む35遺伝子がOATに比較してEATで2倍以上高い発現を示した。そして、このスクリーニングにおいて serglycin がEATに多く発現していることを見出した。定量的リアルタイムPCRで、CAD患者のEATにおける serglycin のmRNA発現がSCATにおける serglycin のmRNA発現よりも13倍高いことが分かった。免疫染色では serglycin はEATの脂肪細胞膜に存在することが判明した。また、serglycinの発現はOATとSCATにおいてもみられた。

3. 3T3L1細胞の脂肪細胞分化における serglycin 発現

脂肪分化における serglycin の発現を調べるために、3T3L1細胞を用いてmRNAとタンパクの発現を検討した。3T3L1細胞の分化誘導で、serglycinのmRNA発現はday2がピークであった。serglycinのタンパク発現はday0ではほとんど見られなかったが脂肪への分化とともに発現が増加した。さらに、serglycinは分化した3T3L1細胞の培地から検出されたが、未分化のものからは検出されなかった。

4. $\text{TNF}\alpha$ による serglycin の発現と分泌の誘導

次に我々は, serglycin が炎症に関連するサイトカインにより誘導されるかを検討した. 調べたサイトカインのうち, $\text{TNF}\alpha$ が分化した 3T3L1 細胞における serglycin の mRNA の発現を誘導した. serglycin のタンパクの発現においては, 分化した 3T3L1 細胞の細胞溶解液では変化はなかったが, 分化した 3T3L1 細胞の条件培地において増加した. さらに serglycin が血清に存在するかをみるためにヒト血清を用いてウエスタンブロッティングを行った. serglycin はヒト血清においても確認された.

考察

EAT は炎症性因子と抗炎症因子の両方のソースであるとみなされているが, 重症 CAD においては炎症性サイトカインの分泌が優位であることが多くの報告により示されている. 我々は, 重症 CAD の患者より得た脂肪組織を用いて, SCAT に比較して EAT において選択的に発現が上昇した 321 プローベの中から炎症と免疫応答に関する 55 遺伝子を抽出したが, この結果は CAD 患者の EAT が強い炎症促進性を有することを示していると考ええる. 炎症性因子は動脈硬化の過程に関与すると推測されているが, 我々のデータも EAT における炎症関連遺伝子が CAD の進展に寄与することを示唆していると考ええる.

serglycin は最初は造血細胞に高度に発現しているプロテオグリカンとして同定された. そして現在では炎症と免疫応答の過程においても重要な機能を有していることが示されている. 我々は, EAT における serglycin の発現が SCAT における serglycin の発現よりも高いことと, serglycin が脂肪細胞に存在することを示した. EAT は, $\text{TNF}\alpha$ や IL6 の様な炎症性サイトカインの豊富なソースであることが示されている. 脂肪組織は前駆脂肪細胞や成熟脂肪細胞, 内皮細胞を含む間質血管細胞群, 血球, マクロファージなどの様々な細胞を含んでいる. 重症 CAD 患者の手術中に得た EAT では, 主にマクロファージで構成されるかなりの炎症細胞浸潤が観察されている. マクロファージと単球により主に $\text{TNF}\alpha$ が産生されることから, EAT の炎症細胞が $\text{TNF}\alpha$ のソースになっていると考えられる. マクロファージにおいては, serglycin が $\text{TNF}\alpha$ の分泌調整をすることが報告されている. 我々は脂肪細胞において $\text{TNF}\alpha$ が serglycin の発現と分泌を誘導することを示した. これらの知見より, serglycin と $\text{TNF}\alpha$ が互いの発現と分泌を調節し合い, マクロファージと EAT の脂肪細胞の間のパラクラインクロストークを仲介し, 炎症性変化の悪循環を引き起こすことが考えられる. さらに, $\text{TNF}\alpha$ が動脈硬化においても炎症促進的な効果を有し, 肥満の脂肪細胞においてもアディポサイトカインの調節破綻の決定因子として働くことや, EAT からのアディポサイトカインが, 栄養血管を經由して血管内膜層のアテローム性プラーク形成を促進することが示されており, EAT における serglycin と $\text{TNF}\alpha$ がマクロファージと脂肪細胞のクロストークを介して CAD の進展と進行に寄与している可能性が考えられる.

肥満は全身の軽度の慢性炎症であると指摘されており, 肥満の脂肪組織ではマクロファージの浸潤が増加していることが知られている. 我々は serglycin がヒト血清にも存在することを示したが, このことより, 循環型 serglycin が脂肪細胞由来のマクロファージから分泌される炎症性のタンパクと協調して脂肪組織の炎症に関与している可能性が考えられる. それに加え, $\text{TNF}\alpha$ と IL6 の血清レベルは CAD の患者では上昇しているという報告もあり, 動脈硬化は動脈壁の慢性炎症とみなされていることより, 循環型 serglycin と炎症性因子が, 全身性の血管障害と動脈硬化性変化のメカニズムにも関与している可能性も考えられる.